

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

541, 128

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:
2004年7月15日(15.07.2004)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 2004/058706 A1

(51) 国际分类号⁷: C07D 207/273, A61K 31/40, A61P 43/00

(21) 国际申请号: PCT/CN2003/001150

(22) 国际申请日: 2003年12月31日(31.12.2003)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
02159343.4 2002年12月31日(31.12.2002) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 中国医学科学院药物研究所(INSTITUTE OF MATERIA MEDICA CHINESE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES) [CN/CN]; 中国北京市宣武区先农坛街一号, Beijing 100050 (CN)。

(72) 发明人;及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 黄量(HUANG, Liang) [CN/CN]; 张均田(ZHANG, Juntian) [CN/CN]; 吴克美(WU, Kemei) [CN/CN]; 陈世明(CHEN, Shiming) [CN/CN]; 李行舟(LI, Xingzhou) [CN/CN]; 中国北京市宣武区先农坛街一号, Beijing 100050 (CN)。

(74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 (CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW)

OFFICE); 中国北京市阜成门外大街2号万通新世界广场8层, Beijing 100037 (CN)。

(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(地区): ARIPO专利(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:

— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: CLAUSENAMIDE C₅ HYDROXYL DERIVATIVES AND N-SUBSTITUTED DERIVATIVES, PROCESSES FOR THEIR PREPARATION, ITS COMPOSITION AND USE

(54) 发明名称: 黄皮酰胺 C₅ 羟基衍生物及 N 取代衍生物、其制法和其药物组合物与用途

(57) Abstract: The invention provides C₅ hydroxyl substituted clausenamide stereoisomer, N-substituted Derivatives and processes for their preparation, it also provides its pharmaceutical composition containing the same compounds as the active components and the use in the preparation of a medicament for the treatment of senilism and for improving memory.

(57) 摘要

本发明涉及羟苄基、羟基、苯基取代 γ -内酰胺(黄皮酰胺)的 C₅ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体, N 取代衍生物及它们的制备方法, 以它们作为活性物质的药物组合物, 和它们在制备促智, 抗衰老药物的应用。

WO 2004/058706 A1

黄皮酰胺 C₅羟基衍生物及 N 取代衍生物、 其制法和其药物组合物与用途

技术领域

本发明涉及黄皮酰胺 C₅羟基取代的立体异构体，N 取代衍生物及它们的制备方法，以它们作为活性物质的药物组合物，和它们在制备促智，抗衰老药物的应用。

背景技术

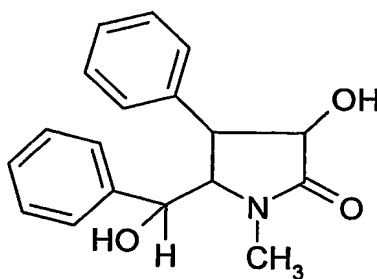
目前我国人口的平均寿命已超过 70 岁，比解放时的人均寿命增加了一倍。国外一项科学研究预测：到 2025 年时，15 岁以下儿童的比例将占总人口的 18.6%，而 65 岁及 65 岁以上的老年人将超过童数，达到 18.8%，这个数字表明，再过 20 余年，每 5 个人中就有 1 个老年人。早老性痴呆症（Alzheimer's Disease）多发生在 50 余岁。因脑血管病变引发的多发性栓塞性痴呆或老年性痴呆多发生在 60 岁以后。可见，由于人口的老龄化，早老性痴呆症和老年性痴呆症的发病率也必将增加。老年人及其特有的神经退化性疾病——各种痴呆症要经历两种死亡，首先是精神上的死亡，后是肉体上的死亡，苦不堪言，更给社会和家庭带来沉重负担。人口老龄化被认为是仅次于战争，瘟疫，饥荒，资源能源短缺而影响社会发展和安定的不利因素。

防治衰老和治疗老年痴呆的药物种类繁多。脑血管扩张药，通过改善脑血流量有助于提供能量和改善智能，但真正有价值的脑血管扩张药必须具有高度选择性，不影响脑代谢，无“窃血”现象，有抗血小板聚集和抗血栓作用。钙拮抗剂尼莫地平虽符合上述某些条件，但它

仅作用于电压依赖性钙通道中的L-通道,对N型和T型钙通道无影响。增强胆碱系统功能的药物中, Ach 前体仅有微弱的治疗作用, Ach 受体激动剂和胆碱脂酶抑制剂虽有一定效果, 但作用较短暂, 毒副作用较大。多种神经肽和神经生长因子曾被认为有治疗痴呆症的希望, 但临床效果不佳, 可能主要归因于这类物质难以通过血脑屏障进入脑内发挥作用, 2-吡咯烷酮乙酰胺 (*piracetam* 国内已生产, 商品名脑复康) 问世后, 在早期文献中属没有争论的一类新型促智药 (*nootropil*, 该词是从希腊词 *noo* (脑) 和 *tropein* (向) 衍化而来), 近几年来国内外报道, 该药对各类型的记忆障碍和老年痴呆作用轻微或尚无定论, 一个主要原因是该药为水溶性化合物, 通过血脑屏障率低, 不易集中到靶点发挥作用。

本发明人从芸香科植物黄皮 [*Clausena Lansium (lour.) Skells*] 中第一次分离出含有脑复康药的 γ -内酰胺骨架的化合物, 称之为黄皮酰胺 (*Clausenamide*)。黄皮酰胺是具有四个手性中心的 γ -内酰胺, 天然品为消旋体, 消旋黄皮酰胺的合成方法曾申请欧洲专利, 其申请号为 EP0414020, 中国专利申请为 86107090, 90107145.5 和 90107144.7。左旋黄皮酰胺具有较好的促智作用, 该化合物的纯物质、制备方法及其潜在的医药应用本发明人已申请专利, CN00124630.5。

黄皮酰胺分子中有 4 个手性中心, 应有 16 个光活的立体异构体, 组成互为非对映关系的 8 对对映异构体 (其构型与命名如表 1)



(I)

表 1 8 对光活立体异构体

	黄皮酰胺 (I ₁) (-) 3S, 4R, 5R, 6S (+) 3R, 4S, 5S, 6R	新黄皮酰胺 (I ₂) (-) 3S, 4R, 5S, 6R (+) 3R, 4S, 5R, 6S
C ₆ 异构体	表黄皮酰胺 (I ₃) (+) 3S, 4R, 5R, 6R (-) 3R, 4S, 5S, 6S	表新黄皮酰胺 (I ₄) (-) 3S, 4R, 5S, 6S (+) 3R, 4S, 5R, 6R
C ₃ 异构体 (C ₃ /C ₄ 顺式)	顺黄皮酰胺 (I ₅) (+) 3S, 4S, 5S, 6R (-) 3R, 4R, 5R, 6S	顺新黄皮酰胺 (I ₆) (-) 3S, 4S, 5R, 6S (+) 3R, 4R, 5S, 6R
	顺表黄皮酰胺 (I ₇) (+) 3S, 4S, 5S, 6S (-) 3R, 4R, 5R, 6R	顺表新黄皮酰胺 (I ₈) (-) 3S, 4S, 5R, 6R (+) 3R, 4R, 5S, 6S

其中黄皮酰胺的一对对映体(I₁)本发明人已申请专利(专利申请号: CN00124630.5)。消旋的新黄皮酰胺(I₂)和消旋的表新黄皮酰胺(I₄)是公知的,但光活新黄皮酰胺(I₂)和表新黄皮酰胺(I₄)及其制备方法未见文献报道。(-)和(+)黄皮酰胺(I₁)的体内、外代谢的研究结果表明:两者的代谢物的种类基本相同,而(-)黄皮酰胺的代谢物中(-)N-羟甲基去甲黄皮酰胺[(-)-CM₁]和(-)-5-羟基黄皮酰胺[(-)-CM₂]的含量明显高于(+)黄皮酰胺的代谢产物中相应的[(+)-CM₁]和[(+)-CM₂]的含量。其母体 (-)黄皮酰胺的药理试验表明,具有明显的促智作用,而(+)黄皮酰胺无此作用,并有拮抗作用,据此合成了代谢物 CM₁ 和 CM₂ 的一一对映体及其衍生物,其中 CM₁ 的制备本发明人已发表,。

现有技术不能直接用于制备本发明所述的具有光学活性黄皮酰胺及其衍生物。

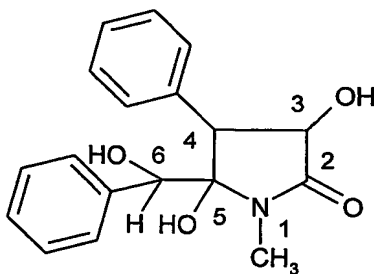
发明内容

本发明的目的是提供一类新的黄皮酰胺 C₆ 羟基衍生物及 N 取代衍生物。

本发明的另一目的在于提供制备黄皮酰胺 C₅ 羟基衍生物及 N 取代衍生物的方法；

本发明的另一目的在于提供黄皮酰胺 C₅ 羟基衍生物及 N 取代衍生物在制备促智，抗衰老作用药物的应用。

根据本发明，涉及如通式(II)所示的光活黄皮酰胺 C₅ 羟基的衍生物



(II)

结构特征在于：消旋 II₁ 构型为(3S*,4S*,5S*,6R*),

消旋 II₂ 构型为(3S*,4S*,5R*,6S*),

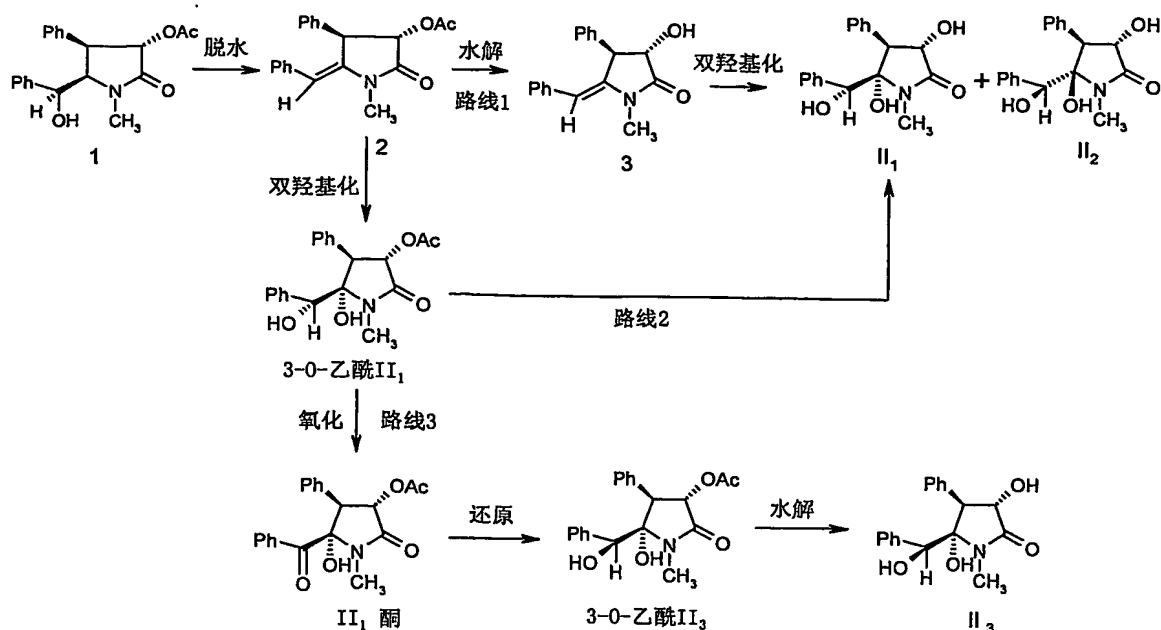
消旋 II₃ 构型为(3S*,4S*,5S*,6S*)。

光活 II₁ 构型为：(3S,4S,5S,6R) (+)II₁ 或(3R,4R, 5R,6S)(-)II₁；

光活 II₂ 构型为：(3S,4S,5R,6S) (+) II₂ 或(3R,4R,5S,6R) (-) II₂；

光活 II₃ 构型为：(3R,4R,5R,6R) (+)II₃ 或(3S,4S,5S,6S) (-)II₃。

根据本发明，还涉及通式(II)所示的光活黄皮酰胺 C₅ 羟基的衍生物的制备方法如线路图 1 所示。

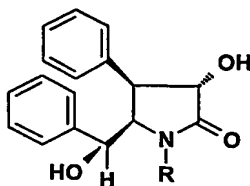


路线图 1

- (1) 消旋 3-O-乙酰黄皮酰胺(1) 及其光活体的脱水，脱水剂可用 POCl_3/Py ，或先制备黄皮酰胺的甲磺酸酯再以 DBU 脱除甲磺酸。其中优选 POCl_3/Py 。
- (2) 消旋 3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(2) 及其光活体的水解可选用常规的酸或碱性条件。
- (3) 消旋 $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(3) 及其光活体的双羟基化可用 OsO_4/NMO 、 $\text{KHSO}_5/\text{CH}_3\text{COCF}_3$ 、 $\text{WO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ 等，其中优选 OsO_4/NMO 。
- (4) (3S*,4S*,5S*,6R*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II₁)及其光活体可用 $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4$ ， MnO_2 ， $\text{DMSO}/\text{ClCOCOC}/\text{TEA}$ ， $\text{DMSO}/\text{三氟乙酸酐 (TFAA)}/\text{TEA}$ 等氧化剂。其中优选 $\text{DMSO}/\text{ClCOCOC}/\text{TEA}$ 。
- (5) (3S*,4S*,5S*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺酮(II₁ 酮) 及其光活体的还原可选用各种硼氢化试剂，优选硼氢化钠、三仲丁基硼锂。
- (6) (3S*,4S*,5S*,6S*)-3-乙酰氧基-5-羟基黄皮酰胺(II₃) 及其光活体

的水解选用各种酸、碱或 $\text{Sm}(\text{钐})/\text{I}_2/\text{CH}_3\text{OH}$, 优选 $\text{Sm}/\text{I}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 。

根据本发明, 还涉及如通式 (III) 所示的黄皮酰胺的 N 取代衍生物



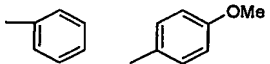
(III)

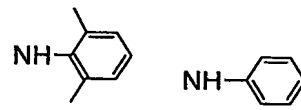
其特征在于相对构型为 $(3S^*, 4R^*, 5R^*, 6S^*)$,

取代基 R 选自: CH_2COR^1 、 CH_2OCOR^2 、 CHR^3

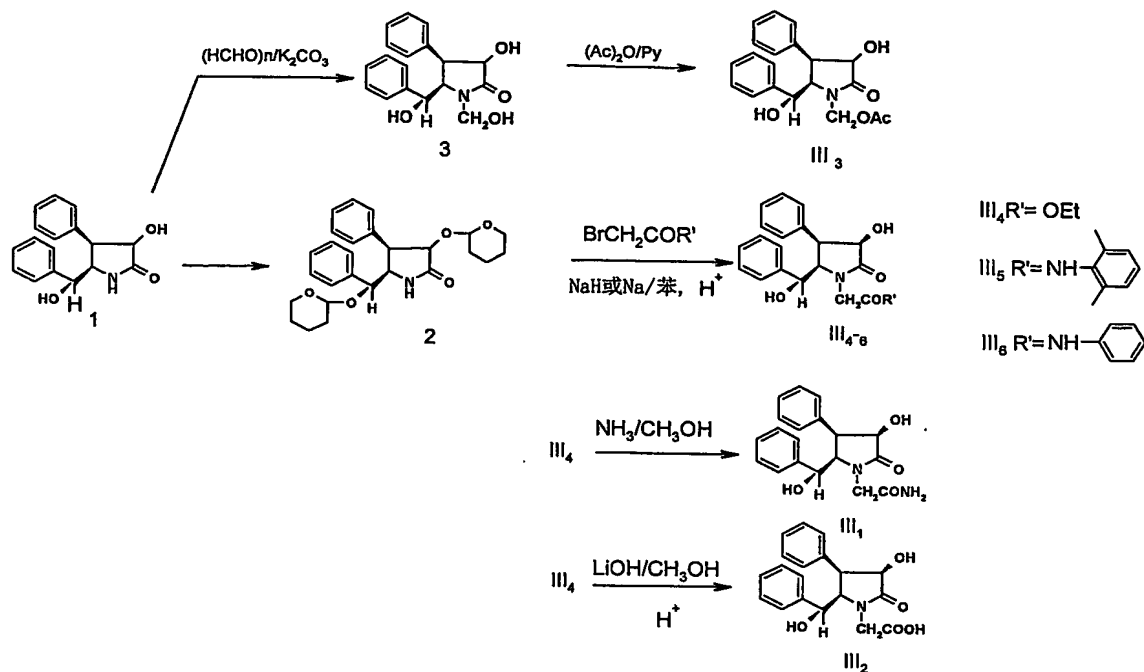
其中, R^1 选自 OH 、 NH_2 、 C_{1-8} 烷氧基、

R^2 选自 C_{1-8} 烷氧基

R^3 选自 。



通式 (III) 所示的黄皮酰胺的 N 取代衍生物, 当 R 选自 CH_2COR^1 、 CH_2OCOR^2 时的制备方法如线路图 2 所示



路线图 2

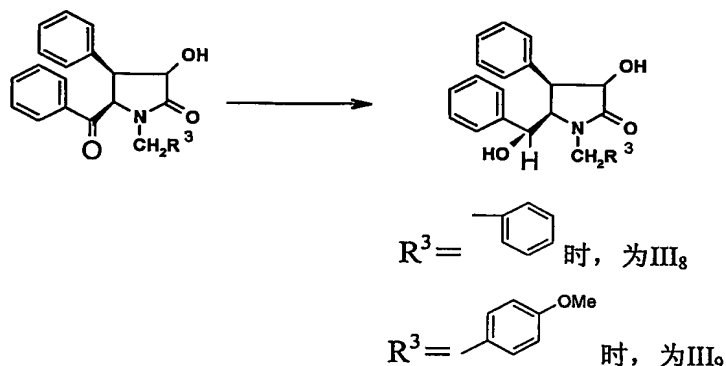
由去甲黄皮酰胺(1)和二氢吡喃在吡啶对甲苯磺酸盐催化下制备 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺(2)。将 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺(2)溶于无水苯中,加入氢钠,油浴加热半小时,再在室温下搅 10 分钟,加入溴乙酸酯的无水苯溶液,油浴 60℃ 下反应 20 分钟后,将反应液温度降至室温,加入水搅拌,用二氯甲烷稀释,盐酸调至中性,分出有机层,洗涤干燥,蒸发溶剂得到油状物。将此油状物用乙醇溶解,加入 10mg 对甲苯磺酸,油浴 60℃ 下反应脱四氢吡喃保护,反应完全后直接柱层析纯化,得到 N-(烷氧(氮)羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III₄)。

将 N-(乙氧羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III₄) 60mg, 以大大过量的 $\text{NH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 溶液处理, 放置过夜, 柱层析纯化后得到 N-(氨羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III₁)。

将去甲黄皮酰胺(1)溶于丙酮中, 滴加一定量的水, 然后加入多聚甲醛和碳酸钾, 外温升至 60℃, 25 分钟后停止加热, 将反应混合物用冰水快速冷却, 减压蒸发溶剂得粘稠的液体。柱层析得 N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3)。将 N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3)溶于无水四氢呋喃中, 冰盐浴

下搅拌 20 分钟, 滴加相应的酸酐和吡啶的无水 THF 溶液, 在此温度下搅拌 3 小时, 加入少量水, 二氯甲烷稀释, 分出有机层, 洗涤, 蒸除溶剂后柱层析分离得到相应的 N-(酰氧基亚甲基)-去甲黄皮酰胺(III₃)。

通式 (III) 所示的黄皮酰胺的 N 取代衍生物, 当 R 选自 CH₂R³ 时的制备方法: 利用 CM₁ 的中间体 N-苄基或对甲氧基苄基黄皮酰胺酮还原制得, 如线路图 3 所示



线路图 3

本发明因此还涉及含有作为活性成份的本发明化合物和常规药物赋形剂或辅剂的药物组合物。通常本发明药物组合物含有 0.1-95 重量 % 的本发明化合物。

本发明化合物的药物组合物可根据本领域公知的方法制备。用于此目的时, 如果需要, 可将本发明化合物与一种或多种固体或液体药物赋形剂和/或辅剂结合, 制成可作为人药或兽药使用的适当的施用形式或剂量形式。

本发明化合物或含有它的药物组合物可以单位剂量形式给药, 给药途径可为肠道或非肠道, 如口服、肌肉、皮下、鼻腔、口腔粘膜、皮肤、腹膜或直肠等, 优选口服。

本发明化合物或含有它的药物组合物的给药途径可为注射给药。注射包括静脉注射、肌肉注射、皮下注射和皮内注射等。

给药剂型可以是液体剂型、固体剂型。如液体剂型可以是真溶液类、胶体类、微粒剂型、乳剂剂型、混悬剂型。其他剂型例如片剂、胶囊、滴丸、气雾剂、丸剂、粉剂、溶液剂、混悬剂、乳剂、颗粒剂、栓剂、冻干粉针剂等。

本发明化合物可以制成普通制剂、也可以是缓释制剂、控释制剂、靶向制剂及各种微粒给药系统。

为了将单位给药剂型制成片剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如淀粉、糊精、硫酸钙、乳糖、甘露醇、蔗糖、氯化钠、葡萄糖、尿素、碳酸钙、白陶土、微晶纤维素、硅酸铝等；湿润剂与粘合剂，如水、甘油、聚乙二醇、乙醇、丙醇、淀粉浆、糊精、糖浆、蜂蜜、葡萄糖溶液、阿拉伯胶浆、明胶浆、羧甲基纤维素钠、紫胶、甲基纤维素、磷酸钾、聚乙烯吡咯烷酮等；崩解剂，例如干燥淀粉、海藻酸盐、琼脂粉、褐藻淀粉、碳酸氢钠与枸橼酸、碳酸钙、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等；崩解抑制剂，例如蔗糖、三硬脂酸甘油酯、可可脂、氢化油等；吸收促进剂，例如季铵盐、十二烷基硫酸钠等；润滑剂，例如滑石粉、二氧化硅、玉米淀粉、硬脂酸盐、硼酸、液体石蜡、聚乙二醇等。还可以将片剂进一步制成包衣片，例如糖包衣片、薄膜包衣片、肠溶包衣片，或双层片和多层片。

例如为了将给药单元制成丸剂，可以广泛使用本领域公知的各种载体。关于载体的例子是，例如稀释剂与吸收剂，如葡萄糖、乳糖、淀粉、可可脂、氢化植物油、聚乙烯吡咯烷酮、Gelucire、高岭土、滑石粉等；粘合剂，如阿拉伯胶、黄蓍胶、明胶、乙醇、蜂蜜、液糖、米糊或面糊等；崩解剂，如琼脂粉、干燥淀粉、海藻酸盐、十二烷基磺酸钠、甲基纤维素、乙基纤维素等。

例如为了将给药单元制成胶囊，将有效成分本发明化合物与上述

的各种载体混合，并将由此得到的混合物置于硬的明胶胶囊或软胶囊中。也可将有效成分本发明化合物制成微囊剂，混悬于水性介质中形成混悬剂，亦可装入硬胶囊中或制成注射剂应用。

例如，将本发明化合物制成注射用制剂，如溶液剂、混悬剂溶液剂、乳剂、冻干粉针剂，这种制剂可以是含水或非水的，可含一种和/或多种药效学上可接受的载体、稀释剂、粘合剂、润滑剂、防腐剂、表面活性剂或分散剂。如稀释剂可选自水、乙醇、聚乙二醇、1, 3-丙二醇、乙氧基化的异硬脂醇、多氧化的异硬脂醇、聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯等。另外，为了制备等渗注射液，可以向注射用制剂中添加适量的氯化钠、葡萄糖或甘油，此外，还可以添加常规的助溶剂、缓冲剂、pH调节剂等。这些辅料是本领域常用的

此外，如需要，也可以向药物制剂中添加着色剂、防腐剂、香料、矫味剂、甜味剂或其它材料。

为达到用药目的，增强治疗效果，本发明的药物或药物组合物可用任何公知的给药方法给药。

本发明化合物药物组合物的给药剂量取决于许多因素，例如所要预防或治疗疾病的性质和严重程度，患者或动物的性别、年龄、体重、性格及个体反应，给药途径、给药次数、治疗目的，因此本发明的治疗剂量可以有大范围的变化。一般来讲，本发明中药学成分的使用剂量是本领域技术人员公知的。可以根据本发明化合物组合物中最后的制剂中所含有的实际药物数量，加以适当的调整，以达到其治疗有效量的要求，完成本发明的预防或治疗目的。本发明化合物的每天的合适剂量范围本发明的化合物的用量为0.001—150mg/Kg体重，优选为0.01—100mg/Kg体重，更优选为0.01—60mg/Kg体重，最优选为0.1—10mg/Kg体重。上述剂量可以单一剂量形式或分成几个，例如二、

三或四个剂量形式给药这受限于给药医生的临床经验以及包括运用其它治疗手段的给药方案。

每一种治疗所需总剂量可分成多次或按一次剂量给药。本发明的化合物或组合物可单独服用，或与其他治疗药物或对症药物合并使用并调整剂量。

在对人胚胎脑神经干细胞克隆形成率的试验中本发明的化合物具有明显促进人胚胎脑神经干细胞克隆形成的作用，说明本发明的化合物具有治疗老年性神经退行性疾病如老年性痴呆的作用。

在对大鼠海马长时程增强(LTP)的试验中本发明化合物对大鼠海马长时程增强(LTP) 具有明显的增强作用。 本发明化合物对神经细胞基础突触传递有增强作用，说明本发明的化合物有促智作用。

具体实施方式

下面的实施例用来进一步说明本发明，但是这并不意味着对本发明的任何限制。

实施例 1 制备消旋(3S*,4S*,5R*,6S*)-5-羟基黄皮酰胺(II₂) (路线 1)。

消旋 3-O-乙酰黄皮酰胺(1) 1.00g 在干燥条件下，用 6mL 无水吡啶溶解，冰水浴下搅拌 20 分钟，滴加 1.0mL 重蒸的三氯氧磷的 4mL 无水吡啶溶液，半小时滴完，继续冰水浴下搅拌 24 小时，将反应液冲入冰水中，待固体全部析出后过滤，滤饼用二氯甲烷重新溶解，依次用水和氯化钠水溶液洗，无水硫酸钠干燥，蒸除溶剂得固体，柱层析分离得到消旋 3-O-乙酰基- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(2)746mg, ，白色固体，收率 71%，mp 148-150°C。

取消旋 3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(2) 400mg 溶于 15mL 二氯甲烷中，加入 3mL 10%氢氧化钠乙醇溶液，3 分钟后用 2mol/L 盐酸将反应液调

至中性，加 20mL 二氯甲烷稀释，1mol/L 碳酸氢钠水溶液洗涤，氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥。蒸发溶剂得到 $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(3) 330mg，白色固体，收率 95%，mp 162-163°C。

取消旋 $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(3)260mg 溶于 1mL 丙酮和 5mL 四氢呋喃中，加入氧化 N-氧-N-甲基吗啉 545mg，再用注射器加入 0.6mL 四氧化锇的 4%水溶液，室温下搅拌 24 小时之后，向反应液中加入 650mg 无水亚硫酸钠和 3mL 水，搅拌 1 小时，用二氯甲烷稀释反应液，分出有机相，水层二氯甲烷提取，合并有机相，氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥。蒸发溶剂得油状物 280mg。柱层析得到。(±)-(3S*,4S*,5R*,6S*)-5-羟基黄皮酰胺(II₂) 150mg，白色固体，mp:134-136°C，收率 50%。

同时得到副产物(±)-(3S*,4S*,5S*,6R*)-5-羟基黄皮酰胺(II₁) 70mg，白色固体，mp:127-129°C，收率 24%。

实施例 2 制备(±)-(3S*,4S*,5S*,6R*)-5-羟基黄皮酰胺(II₁) (路线 2)

将上述所得的消旋 3-O-乙酰基- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(2)240mg 溶于 4mL 四氢呋喃/丙酮 (5/1) 中，加入 N-氧-N-甲基吗啉 581mg，再加入 1.9mL 四氧化锇的 10mg/mL 水溶液，室温下搅拌，48 小时之后向反应液中加入 500mg 无水亚硫酸钠和 10mL 水，搅拌 1 小时，转移至分液漏斗中，用二氯甲烷洗涤，有机相用氯化钠水溶液洗涤，无水硫酸钠干燥，蒸发溶剂得油状物 300mg，乙酸乙酯重结晶后制备薄层分离 (乙酸乙酯) 分离，共得(±)-(3S*,4S*,5S*,6R*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰-II₁)217mg，收率 82%，mp 163-165°C。

(±)-(3S*,4S*,5S*,6R*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰-II₁)以 Sm/I₂/CH₃OH 脱乙酰制备得到(±)-(3S*,4S*,5S*,6R*)-5-羟基黄皮

酰胺(II₁), mp:127-129°C, 具体操作与实例 7 最后水解一步相同。

光活 (3S,4S,5R,6S)-5-羟基黄皮酰胺(II₂)、(3R,4R,5S,6R)-5-羟基黄皮酰胺(II₂)和光活 (3S,4S, 5S,6R)-5-羟基黄皮酰胺(II₁)、(3R,4R, 5R,6S)-5-羟基黄皮酰胺(II₁)的制备

同 A 中消旋体的制备方法, 不同在于以光活 3-O-乙酰基黄皮酰胺 (1)为原料, 所得的各步产率与消旋体相近, 各步化合物的熔点和旋光值如下:

(-)-3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:119-120°C, $[\alpha]_D^{18} = -330$ (c, 0.870, CHCl₃)

(+)-3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:119-120°C, $[\alpha]_D^{18} = +326$ (c, 0.870, CHCl₃)

(-)- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:125-127°C, $[\alpha]_D^{18} = -17.1$ (c, 0.700, CHCl₃)

(+)- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺, mp:125-127°C, $[\alpha]_D^{18} = +16.7$ (c, 0.738, CHCl₃)

(+)-(3S,4S,5S,6R)-5-羟基黄皮酰胺, 油状物, $[\alpha]_D^{25} = +113$ (c, 0.505, CH₃OH)

(-)-(3R,4R,5R,6S)-5-羟基黄皮酰胺, 油状物, $[\alpha]_D^{25} = -117$ (c, 0.200, CH₃OH)

(+)-(3S,4S,5R,6S)-5-羟基黄皮酰胺, mp: 147-149°C, $[\alpha]_D^{25} = +202$ (c, 0.510, CH₃OH)

(-)-(3R,4R,5S,6R)-5-羟基黄皮酰胺, mp: 145-147°C, $[\alpha]_D^{25} = -208$ (c, 0.620, CH₃OH)

(-)-(3S,4S,5S,6R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II₁), mp:125-128°C, $[\alpha]_D^{15} = -323$ (c, 0.870, CH₃OH)

(+)-(3R,4R,5R,6S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II₁), mp:125-127°C, $[\alpha]_D^{15} = +327$ (c, 0.470, CH₃OH)

实施例 3

A: 消旋(±)-(3S*,4S*, 5S*,6S*)-5-羟基黄皮酰胺(II₃)的制备(路线 3)

向干燥三口瓶中加入 5mL 干燥四氢呋喃, 冷却至-50~-60℃, 在 N₂ 保护下加入草酰氯(重蒸)453ul, 搅拌 1 分钟后, 缓慢加入 DMSO(分子筛干燥) 767ul, 保持温度在-50~-60℃之间, 加完后搅拌 5 分钟, 再缓慢加入 150mg (±)-(3S*,4S*, 5S*,6R*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰-II₁)的 10mL 四氢呋喃溶液, 加完后在上述温度下搅拌 2 小时, 之后滴加 1mL 三乙胺, 在此温度下保持半小时后缓慢的升至室温, 加入 10mL 水, 减压蒸去四氢呋喃, 残余物用乙酸乙酯萃取至水层无产物, 有机层用 1 mol/L 盐酸, 碳酸氢钠水溶液, 饱和氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸镁干燥。蒸发溶剂得 250mg 油状物, 柱层析纯化得 (±)-(3S*,4S*, 5S*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰-II₁ 酮), 95mg, 收率:71%。

取(±)-(3S*,4S*,5S*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰-II₁ 酮) 82mg 用 3mL 甲醇溶解, 冰水浴下搅拌 20 分钟后加入硼氢化钠 30mg, 继续在冰水浴下搅拌 10 分钟, 用 1 mol/L 盐酸将反应液小心调至中性, 加入少量水后减压蒸去有机溶剂, 残余物用乙醚溶解, 分出醚层, 水层用乙醚洗, 合并醚层用氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 蒸发溶剂得油状物, 柱层析分离得到(3S*,4S*,5S*, 6S*)-3-O-乙酰-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰-II₃) 60mg, mp:144-147℃, 收率 73%。

(3S*,4S*,5S*,6S*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺 50mg 溶于 5mL 无水甲醇中, 加入单质碘 38mg 和单质钐 23mg, 在空气下反应 12 小时, 用乙酸乙酯稀释反应液并转移至分液漏斗中, 硫代硫酸钠水溶液(25%)洗涤, 分出有机层后用氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸去溶剂, 柱层析纯化得(±)-(3S*,4S*, 5S*,6S*)-5-羟基-黄皮酰胺(II₃) 25mg,

乙酸乙酯/石油醚重结晶得到白色固体 mp:114-116°C, 收率 56%。

B: (3S,4S,5S,6S)-5-羟基-黄皮酰胺(II₃)和(3R,4R,5R,6R)-5-羟基-黄皮酰胺(II₃)的制备。

同 A 中消旋体的制备方法, 以(-)-(3S,4S,5S,6R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II₁)或 (+)-(3R,4R,5R,6S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II₁)为原料, 所得的各步产率与消旋体相同, 各步化合物的熔点和旋光值如下:

(-)-(3S,4S,5S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰 II₁ 酮),
mp:125-128°C, $[\alpha]_D^{15} = -310$ (c, 0.360, CHCl₃)

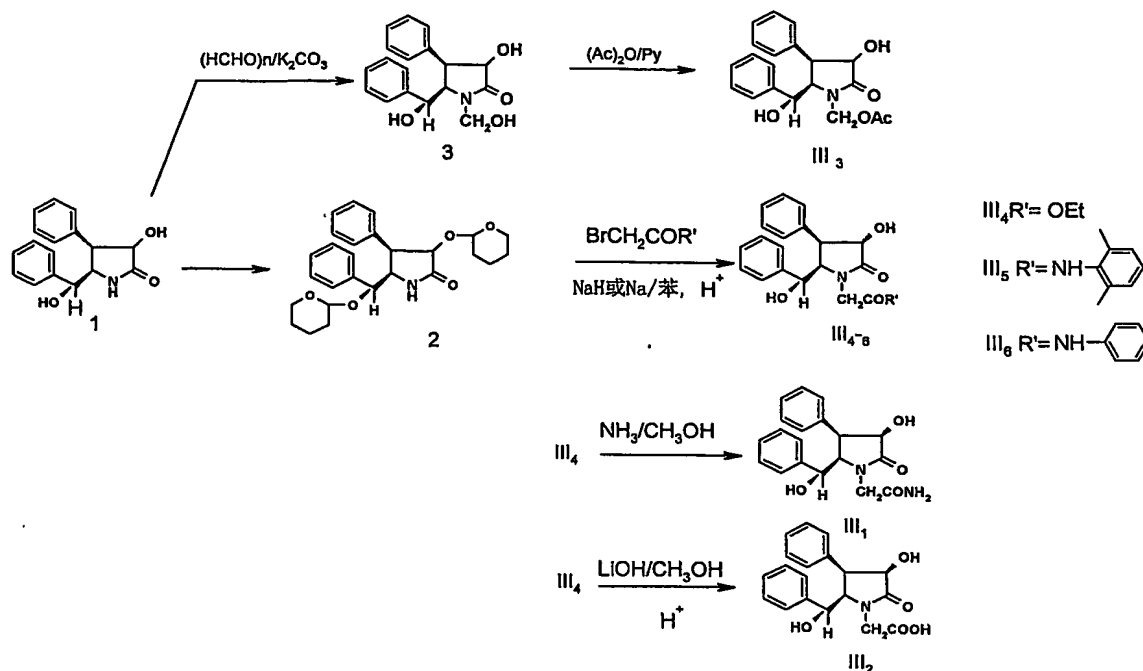
(+)-(3R,4R,5R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺酮(3-O-乙酰 II₁ 酮),
mp:127-129°C, $[\alpha]_D^{18} = +312$ (c, 0.442, CHCl₃)

(-)-(3S,4S,5S,6S)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II₃),
mp:153-157°C, $[\alpha]_D^{15} = -31.9$ (c, 0.455, CH₃OH)

(+)-(3R,4R,5R,6R)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II₃),
mp:152-156°C, $[\alpha]_D^{18} = +31.7$ (c, 0.480, CH₃OH)

(-)-(3S,4S,5S,6S)-5-羟基黄皮酰胺(II₃), 油状物, $[\alpha]_D^{18} = -53.6$ (c, 0.470, CH₃OH)

(+)-(3R,4R,5R,6R)-5-羟基黄皮酰胺(II₃), 油状物, $[\alpha]_D^{18} = +54.1$ (c, 0.480, CH₃OH)



线路图 3

实施例 4 N-(乙氧羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III₄)的制备(如线路图 3)

(1) 光活 3,6-二-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮的制备

(-)-(3R,4S,5R)-新黄皮酰胺酮 443mg(1.5mmol), 280mg 3,4-二氢吡喃(4.5mmol) 38mg 吡啶对甲苯磺酸盐(0.15mmol), 搅拌过夜, 反应完成后, 用 10ml 二氯甲烷稀释, 用 NaCl 水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 浓缩得 (+)-3,6-二-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮 0.51g, 收率 89.6%, m.p.181-7 °C, $[\alpha]_{\text{D}15} +13.46(\text{c}, 0.42, \text{CHCl}_3)$ 。

(+)-(3S,4R,5S)-新黄皮酰胺酮 0.35g 参照上法得(-)-3,6-二-O-四氢吡喃基新黄皮酰胺酮 416mg, 收率 91.4%, m.p.194-200 °C, $[\alpha]_{\text{D}15} -11.9(\text{c}, 0.24, \text{CHCl}_3)$ 。

将 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺(2)120mg 溶于 5mL 无水苯中, 加入氢钠 21mg, 油浴加热半小时, 再在室温下搅 10 分钟, 加入 66mg 溴乙酸乙酯的 5mL 无水苯溶液, 油浴 60 °C 下反应 20 分钟后, 将反应液温度降至室温, 加入 3mL 水搅拌, 用二氯甲烷稀释, 2N 盐酸调至中性, 分出有机层, 用氯化钠水溶液洗涤, 无水硫酸钠干燥, 蒸发溶剂得到油状物, 将此油状物用乙醇溶解, 加入 10mg 对甲苯磺酸, 油浴 60 °C 下反应脱四氢吡喃保护, 反应完全后直接柱层析纯化, 得到标题

化合物, 79 mg, 油状物, 收率 82%。

实施例 10 N-(氨羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III₁)的制备

将 N-(乙氧羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺(III₄) 60mg, 以大大过量的 NH₃/CH₃OH 溶液处理, 放置过夜, 柱层析纯化后得到标题化合物 40mg, 为白色固体, mp: 146-148°C, 收率 72%。

实施例 5 N-(乙酰氧基亚甲基)-去甲黄皮酰胺(III₃)的制备

将去甲黄皮酰胺(1) 200mg 溶于 7.5mL 丙酮中, 滴加 3 滴水, 然后加入 33mg 的多聚甲醛和碳酸钾 9mg, 外温升至 60 °C, 25 分钟后停止加热, 将反应混合物用冰水快速冷却, 减压蒸发溶剂得 208mg 粘液。柱层析得 162mg N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3) 的白色固体, mp: 199-201°C, 收率 73%。

将 N-羟甲基去甲黄皮酰胺(3) 155mg 溶于 10mL 无水四氢呋喃中, 冰盐浴下(-8°C) 搅拌 20 分钟, 滴加 75mg 醋酐和 59mg 的吡啶 2mL 无水 THF 溶液, 在此温度下搅拌 3 小时, 加入少量水, 二氯甲烷稀释, 分出有机层, 用水和氯化钠水溶液各洗一次, 无水硫酸钠干燥, 蒸除溶剂后柱层析分离得到 N-(乙酰氧基亚甲基)-去甲黄皮酰胺(III₃), 60mg, mp: 137-139°C, 收率 32%。

药理实验

实验例 1 C₆ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及 N-取代黄皮酰胺衍生物对小鼠脑神经干细胞的细胞增殖的影响

1、目的和意义:

神经干细胞数量的增加或寿命的延长对增加神经元和防止神经元丢失具有特别重要的意义。我们采用小鼠脑神经干细胞研究 C₆ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及 N-取代黄皮酰胺衍生物是否具有促进神经干细胞增殖的作用。

2. 方法:

小鼠 C17-2 脑神经干细胞在 1640 培养基、10% 马血清、10% 胎牛血清、5% CO₂ 和 37° C 培养箱的条件下连续培养。用 0.1 % 胰蛋白酶溶液将小鼠神经干细胞消化成单细胞悬液, 离心 1000 rpm X 5 min, 再用培养基冲洗, 细胞经接种于 96 孔培养板中, 神经干细胞 1 X 10³ 细胞/孔, 每组 3 孔, 连续培养。24h 后加药, C₅ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及 N-取代黄皮酰胺衍生物 (名称见表 1) 的给药剂量为 0.1 μM, 1 μM 和 10 μM, 每天一次在显微镜下观测细胞的生长状态, 于第 4 天吸去培养液, 加含有 MTT 的磷酸盐缓冲液, 再培养 4 小时, 吸尽液体, 加 DMSO 溶液, 37 度震荡培养 10 分钟, 在多功能工作站的 490nm 中测定每孔的 OD 值。对照组细胞生长率定为 100%。各剂量组分别与对照组进行比较。并用 t 检验进行统计学处理。

3. 结果

C₅ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及 N-取代黄皮酰胺衍生物对小鼠神经干细胞的细胞增殖率的结果见表 1。

16 种化合物中两种 C₅ 羟基取代黄皮酰胺立体异构体 (5 号 (-) II₁ (C₁₈H₁₉NO₄ 313.36) 和 8 号 (+) II₁ (C₁₈H₁₉NO₄ 313.36)) 和一种 N-取代黄皮酰胺衍生物 (12 号 (±) III₅ (C₂₇H₂₈N₂O₄ 444.54)) 在 0.1 μM 和 1 μM 的剂量下具有明显促进小鼠神经干细胞的增殖作用。

表 1. C₅ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及 N-取代黄皮酰胺衍生物对小鼠神经干细胞增殖的影响

代号	化合物名称	分子式	分子量	给 药 剂量	结果 (OD)	细胞增殖 %
对照	DMSO			0	0.137±0.021	100.00
阳性对照	成纤维细胞生长因子			5mg/L	0.340±0.035 **	248.17
1	(-) Δ ^{6,9} -I	C ₁₈ H ₁₇ NO ₂	279.34	10 ⁻⁵ M	0.076±0.016	55.47
				10 ⁻⁶ M	0.165±0.011	120.44
				10 ⁻⁷ M	0.246±0.005	179.56
2	(-) II ₁	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	10 ⁻⁵ M	0.126±0.016	91.97
				10 ⁻⁶ M	0.236±0.049 *	172.26
				10 ⁻⁷ M	0.256±0.020**	186.86
3	(+) II ₁	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	10 ⁻⁵ M	0.093±0.007	67.88
				10 ⁻⁶ M	0.264±0.036*	192.70

4	(-)-3-O-AC-II ₁	C ₂₀ H ₂₁ NO ₅	355.39	10 ⁻⁷ M	0.250±0.016**	182.48
				10 ⁻⁵ M	0.063±0.014	45.99
				10 ⁻⁶ M	0.072±0.006	52.55
5	(-) II ₂	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	10 ⁻⁷ M	0.179±0.004	130.66
				10 ⁻⁵ M	0.156±0.095	113.87
				10 ⁻⁶ M	0.163±0.038	118.98
6	(+) II ₂	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	10 ⁻⁷ M	0.233±0.033	170.07
				10 ⁻⁵ M	0.076±0.008	55.47
				10 ⁻⁶ M	0.220±0.023	160.58
7	(-) II ₃	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	10 ⁻⁷ M	0.175±0.059	127.74
				10 ⁻⁵ M	0.088±0.006	64.23
				10 ⁻⁶ M	0.187±0.020	136.50
8	(+) II ₃	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	10 ⁻⁷ M	0.168±0.076	122.63
				10 ⁻⁵ M	0.131±0.009	95.62
				10 ⁻⁶ M	0.199±0.024	145.26
9	(±) III ₁	C ₁₉ H ₂₀ N ₂ O ₄	340.38	10 ⁻⁷ M	0.253±0.020*	184.67
				10 ⁻⁵ M	0.104±0.009	75.91
				10 ⁻⁶ M	0.205±0.006	149.64
10	(±) III ₂	C ₁₉ H ₁₉ NO ₅	341.37	10 ⁻⁷ M	0.240±0.017 *	175.18
				10 ⁻⁵ M	0.100±0.018	72.99
				10 ⁻⁶ M	0.175±0.006	127.74
11	(-) III ₃	C ₂₀ H ₂₁ NO ₅	355.39	10 ⁻⁷ M	0.218±0.012	159.12
				10 ⁻⁵ M	0.061±0.007	44.53
				10 ⁻⁶ M	0.147±0.021	107.30
12	(±) III ₅	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₄	444.54	10 ⁻⁷ M	0.217±0.024	158.39
				10 ⁻⁵ M	0.171±0.035	124.82
				10 ⁻⁶ M	0.227±0.011*	165.69
13	(±) III ₆	C ₂₅ H ₂₄ N ₂ O ₄	416.48	10 ⁻⁷ M	0.304±0.051**	221.90
				10 ⁻⁵ M	0.147±0.051	107.30
				10 ⁻⁶ M	0.163±0.003	118.98
14	(±) III ₇	C ₂₄ H ₂₁ NO ₃	371.44	10 ⁻⁷ M	0.230±0.013	167.88
				10 ⁻⁵ M	0.146±0.011	106.57
				10 ⁻⁶ M	0.196±0.007	143.07
15	(-) III ₈	C ₂₄ H ₂₃ NO ₃	373.46	10 ⁻⁷ M	0.219±0.017	159.85
				10 ⁻⁵ M	0.096±0.022	70.07
				10 ⁻⁶ M	0.144±0.038	105.11
16	(±) III ₉	C ₂₅ H ₂₅ NO ₄	403.48	10 ⁻⁷ M	0.221±0.043	161.31
				10 ⁻⁵ M	0.120±0.027	87.59
				10 ⁻⁶ M	0.138±0.012	100.73
				10 ⁻⁷ M	0.212±0.011	154.74

4. 小结

本发明的 C₆ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及 N-取代黄皮酰胺衍生物对促进小鼠神经干细胞的增殖有一定的作用，其中有两种 C₆ 羟基取代黄皮酰胺立体异构体（5 号 (-) II₁ 和 8 号 (+) II₁ 和一种 N-取代黄皮酰胺衍生物（12 号 (±) III₅）具有明显地促进小鼠神经干细胞的增

殖作用。

实验例 2. C₅ 羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及 N-取代黄皮酰胺衍生物对大鼠海马长时程增强(LTP)的影响

1. 目的和意义

黄皮酰胺在多种行为学实验中表现出明显的促智作用, 但其对突触传递活动的影响目前还不清楚, 而突触是神经系统中细胞间信息传递和加工的基础环节, 其功能活动和形态结构上的改变是学习记忆活动的神经生物学基础, 因此, 本实验采用电生理学技术从突触水平对黄皮酰胺的促智作用进行研究.

2. 方法

成年雄性 SD 大鼠 (5 只/组) 以 20% (w/v) 乌拉坦 (1.0g·kg⁻¹, ip) 麻醉并固定于立体定位仪上。参照 Pellegrino 大鼠脑立体定位图谱, 在海马齿状回颗粒细胞层埋藏记录电极 (外覆绝缘层, 尖端裸露 0.2mm, 直径 0.2mm 的不锈钢针)。侧脑室给予表 9 所示的 4 对光学活性的黄皮酰胺。刺激电极 (两枚间距 0.5mm, 外覆聚四氟乙烯绝缘层, 尖端裸露 0.2mm, 直径 0.15mm 的不锈钢针构成) 埋植于大鼠内嗅区穿通路 (perforant path, PP) 纤维间。电子刺激器产生持续的电流刺激后, 经刺激隔离器和刺激电极输向 PP。调整刺激电极的位置, 直到观察到典型的兴奋性突触后电位 (EPSP)。电流通过放大器放大后, 经过计算机 DataWave 软件处理。刺激强度则采用引起最大群峰电位 (Population spike, PS) 所需刺激强度的 1/2。在整个实验过程中, 每 30 秒钟给予一次测试刺激频率, 记录群峰电位幅度 (Population spike amplitude, PSA), 根据公式 (PSA/基础幅度值) 计算出相对的 PSA 百分率。

3. 结果

由实验结果 (表 2) 可知, 本发明的化合物基本对基础突触传递都有一定的增强作用; 其中 1 号 (-) $\Delta^5, 6$ -I, 2 号 (+) II₁, 7 号 (+) II₃ 和 9 号 (±) III₂ 对基础突触传递有明显的增强作用 (P<0.05 vs control, n=5)

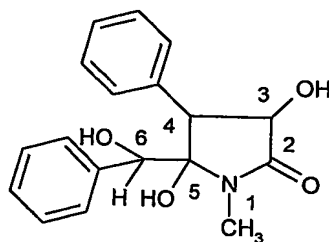
表2、C₆羟基取代黄皮酰胺的立体异构体及N-取代黄皮酰胺衍生物LTP筛选结果

样品号	化合物	分子式	分子量	动物数 (只)	相对群峰电位(PSA%)				
					给药前	给药后 15min	给药后 30min	给药后 45min	给药后 60min
对照	Control			3	100	107.10±10.08	103.53±6.12	97.86±3.18	95.99±11.08
1	(-) Δ ^{6,6} -I	C ₁₈ H ₁₇ NO ₂	279.34	5	100	123.37±14.80	138.79±10.94**	158.89±23.04*	181.50±35.88*
2	(+) II ₁	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	4	100	144.86±49.53	168.02±49.16	194.32±56.65*	233.24±55.62*
3	(-)III-3-OAc	C ₂₀ H ₂₁ NO ₅	355.39	3	100	78.91±13.90	83.73±13.59	94.60±8.87	102.66±2.88
4	(-) II ₂	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	3	100	110.55±7.27	103.09±10.12	94.49±10.53	88.40±14.42
5	(+) II ₂	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	3	100	81.48±6.13	77.33±8.93	82.56±1.87	99.92±6.26
6	(-) II ₂	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	3	100	92.83±17.54	87.11±30.54	97.34±25.71	98.30±28.59
7	(+) II ₂	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	313.36	4	100	91.74±17.21	117.87±14.93	161.14±13.94**	188.03±5.28***
8	(±)III ₁	C ₁₉ H ₂₀ N ₂ O ₄	340.38	3	100	85.24±17.41	79.82±22.33	96.00±19.78	117.37±13.49
9	(±)III ₂	C ₁₉ H ₁₉ NO ₅	341.37	4	100	99.41±9.27	117.34±14.74	140.2±10.96**	153.36±13.23**
10	(-) III ₂	C ₂₀ H ₂₁ NO ₅	355.39	5	100	90.33±16.11	100.15±7.48	118.33±25.07	141.37±30.83
11	(±)III ₃	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₄	444.54	5	100	87.51±19.57	97.43±32.15	111.47±46.02	137.15±57.17
12	(±)III ₇	C ₂₄ H ₂₁ NO ₃	371.44	3	100	95.08±5.52	98.53±11.81	109.13±14.82	107.55±21.27
13	(±)III ₈	C ₂₄ H ₂₁ NO ₃	373.46	4	100	67.75±26.84	68.48±21.15	79.25±16.62	98.97±14.26
14	(±)III ₉	C ₂₅ H ₂₃ NO ₄	403.48	4	100	115.6±17.94	107.18±20.09	103.77±15.36	112.72±8.95

Test *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 vs Control.

权 利 要 求

1、如通式 (II) 所示的光活黄皮酰胺 C₅ 羟基的衍生物



(II)

结构特征在于：消旋 II₁ 构型为(3S*,4S*,5S*,6R*),

消旋 II₂ 构型为(3S*,4S*,5R*,6S*),

消旋 II₃ 构型为(3S*,4S*,5S*,6S*);

光活 II₁ 构型为: (3S,4S,5S,6R)

(3R,4R, 5R,6S);

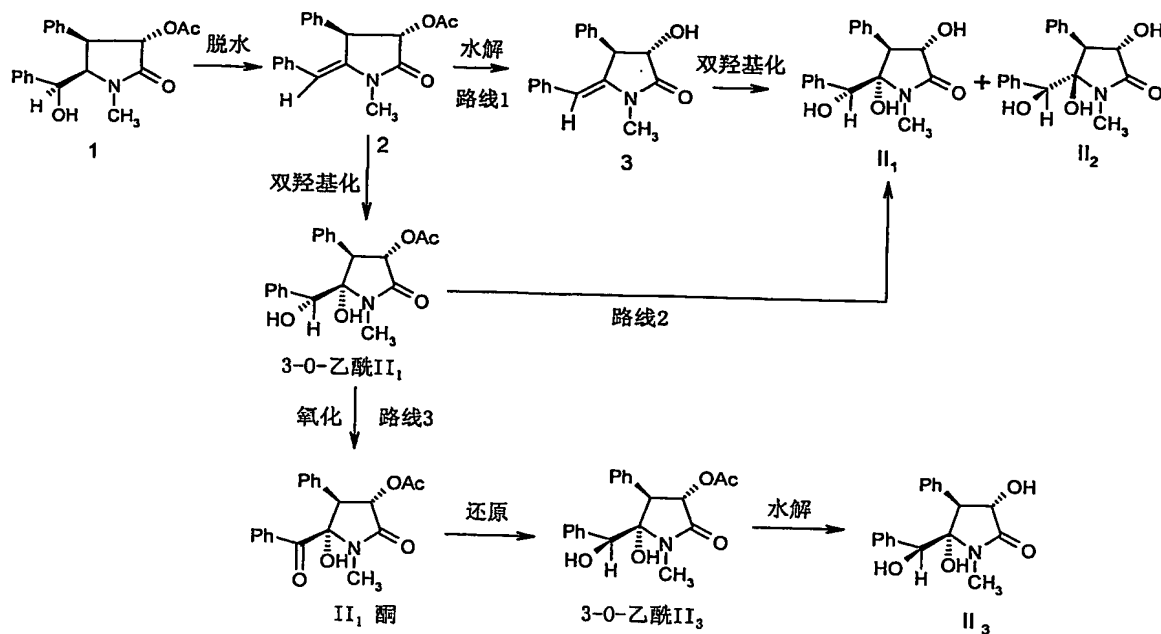
光活 II₂ 构型为: (3S,4S,5R,6S)

(3R,4R,5S,6R);

光活 II₃ 构型为: (3R,4R,5R,6R)

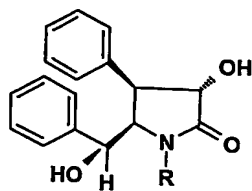
(3S,4S,5S,6S)。

2、如权利要求 1 所述光活黄皮酰胺 C₅ 羟基的衍生物的制备方法，其特征在于，包括如下步骤



- (a) 消旋 3-O-乙酰黄皮酰胺(1) 及其光活体的脱水, 脱水剂可用 POCl_3/Py , 或先制备黄皮酰胺的甲磺酸酯再以 DBU 脱除甲磺酸;
- (b) 消旋 3-O-乙酰- $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(2) 及其光活体的水解可选用常规的酸或碱性条件;
- (c) 消旋 $\Delta^{5,6}$ -黄皮酰胺(3) 及其光活体的双羟基化可用 OsO_4/NMO , $\text{KHSO}_5/\text{CH}_3\text{COCF}_3$, $\text{WO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$;
- (d) (3S*,4S*,5S*,6R*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺(3-O-乙酰 II_1)及其光活体可用 $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4$, MnO_2 , $\text{DMSO}/\text{ClCOCOC}/\text{TEA}$, $\text{DMSO}/\text{TFAA}/\text{TEA}$ 等氧化剂;
- (e) (3S*,4S*,5S*)-3-O-乙酰基-5-羟基黄皮酰胺酮(II_1 酮) 及其光活体的还原可选用各种硼氢化试剂, 如硼氢化钠、三仲丁基硼锂;
- (f) (3S*,4S*,5S*,6S*)-3-乙酰氧基-5-羟基黄皮酰胺(II_3) 及其光活体的水解选用各种酸、碱或 $\text{Sm}/\text{I}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 。

3、如通式 (III) 所示的黄皮酰胺的 N 取代衍生物




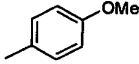
III

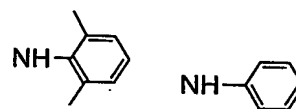
其特征在于：相对构型为(3S*,4R*,5R*,6S*),

R 选自： CH_2COR^1 、 CH_2OCOR^2 、 CHR^3

其中， R^1 选自 OH、 NH_2 、 C_{1-8} 烷氧基、

R^2 选自 C_{1-8} 烷氧基

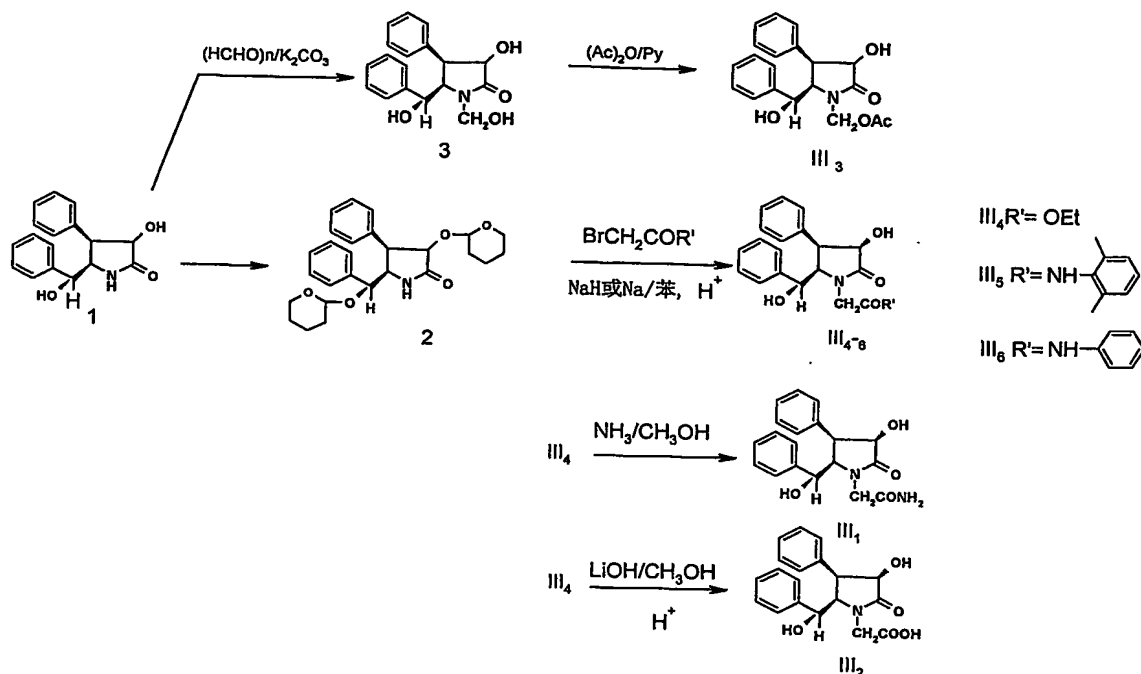
R^3 选自 , 。



4、如权利要求 3 所述黄皮酰胺的 N 取代衍生物的制备方法，其特征在于，

当 R 选自 CH_2R^3 时，利用 N-苄基或对甲氧基苄基黄皮酰胺酮还原制得；

当 R 选自 CH_2COR^1 、 CH_2OCOR^2 时，包括如下步骤：



- 由去甲黄皮酰胺和二氢吡喃在对甲苯磺酸盐催化下制备 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺；
- 将 3,6-二-O-四氢吡喃去甲黄皮酰胺溶于无水苯中，加入氢钠，加热并加入溴乙酸酯，再用酸脱四氢吡喃保护，得到 N-(烷氧(氮)羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺；
- 将 N-(乙氧羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺以大大过量的 $\text{NH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 溶液处理，制备 N-(氨羰基亚甲基)去甲黄皮酰胺；
- 将去甲黄皮酰胺和多聚甲醛和碳酸钾反应制备 N-羟甲基去甲黄皮酰胺；
- 将 N-羟甲基去甲黄皮酰胺和相应的酸酐反应制备相应的 N-(酰氧基亚甲基)-去甲黄皮酰胺。

5、一种药物组合物，其特征在于，含有有效剂量的如权利要求 1 或 3 所述的任一化合物，以及药效学上可接受的载体。

6、如权利要求 1 或 3 所述的化合物在制备促智，抗衰老作用药物的应用。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN03/01150

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D207/273, A61K31/40, A61P43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7:C07D207

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

None

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI,EPODOC,PAJ,CNPAT,CNKI,CA:Clausenamide

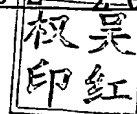
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, Vol.20, no.1, 2000, Yao Qingqiang et al, "LC-MS Analysis of (+) and (-)-Clausenamide and Their Metabolites in Rat Liver Microsomes"page3-7.	1
X	Acta Pharmaceutical Sinica, Vol.36, no.3, 2001, Yao Qingqiang et al, "Biotransformation of (+) and (-)-Clausenamide in Rats", page224-228.	1
A	CN 1345721 A(Chinese ACAD Medical Sci) 24 April 2002(24.04.2002), cited in the document, the whole document.	1-6
A	CN 1050185 A(Bayer AG and Chinese ACAD Medical Sci) 27 March 1991(27.03.1991), cited in the document,the whole document.	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 08.Feb.2004	Date of mailing of the international search report 26 · FEB 2004 (26 · 02 · 2004)
Name and mailing address of the ISA/CN 6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, 100088 Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451	Authorized officer Wu Hongquan Telephone No. 86-10-62085611



INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN03/01150

CN 1345721 A 24/04/2002

None

CN 1050185 A 27/03/1991

JP 3090060 A 16/04/1991

EP 0414020 A 27/02/1991

US 5132433 A 21/07/1992

DE 3927370 A 21/02/1991

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN03/01150

A. 主题的分类

C07D207/273, A61K31/40, A61P43/00

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号)

IPC7:C07D207

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

None

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词)

WPI, EPODOC, PAJ, CNPAT, CNKI, CA:黄皮酰胺, Clausenamide

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
X	药物分析杂志, 第 20 卷, 第 1 期, 2000 年, 姚庆强等, “大鼠肝微粒体温解体系中 (+), (-)-黄皮酰胺及其代谢产物的 LC-MS 分析”, 第 3-7 页。	1
X	药学报, 第 36 卷, 第 3 期, 2001 年, 姚庆强等, “右旋和左旋黄皮酰胺在大鼠体内代谢转化的研究”, 第 224-228 页。	1
A	CN1345721A 中国医学科学院药物化学研究所 2002 年 4 月 24 日 在本申请中引述, 全文。	1-6
A	CN1050185A (拜尔公司, 中国医学科学研究院) 1991 年 3 月 27 日 在本申请中引述, 全文。	1-6

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的专用类型:

“A” 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先的申请或专利

“L” 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布的在后文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理

“X” 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性

“&” 同族专利成员的文件

国际检索实际完成的日期

08.2 月 2004 (08.02.2004)

国际检索报告邮寄日期

26 · 2月 2004 (26 · 02 · 2004)

国际检索单位名称和邮寄地址

ISA/CN

中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088)

传真号: 86-10-62019451

授权官员

吴红权

电话号码: 86-10-62085611

权吴
印红

国际检索报告
关于同族专利成员的情报

国际申请号
PCT/CN03/01150

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利成员	公布日期
CN1345721A	24/04/2002	None	
CN1050185A	27/03/1991	JP3090060A	16/04/1991
		EP0414020A	27/02/1991
		US5132433A	21/07/1992
		DE3927370A	21/02/1991